



<https://doi.org/10.5564/pib.v37i1.3135>

PROCEEDINGS OF
PIB
THE INSTITUTE OF BIOLOGY

Phytochemical study of *in vitro* cultured Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.,)

Selenge Munkhtsetseg, Bolortuya Ulziibat, Oyunbileg Yungeree*

Laboratory of Plant Biotechnology, Institute of Biology, Mongolian Academy of Sciences

Received 7 Jun 2021; received in revised form 15 October 2021; accepted 10 November 2021

Abstract

Acorus calamus, registered in the Mongolian Red book as an endangered, is a perennial herb that synthesizes about 140 bio-active compounds including phenylpropanoids, flavonoids, mono, and sesquiterpenes. The most common ingredient in the prescriptions for Mongolian traditional medicine, sweet flag (*Acorus calamus*) has been used extensively in traditional oriental medicine and is still used in medicine, food and cosmetic industries in many countries today. Due to shrinking of natural habitat and distribution area of the species, it is required to generate the raw materials for the production of medicines and other final products as a result of propagating them through advanced technology in laboratory conditions. To confirm whether we could substitute application of the natural population through the *in vitro* propagated plantlets, it is also necessary to compare their content of predominant compounds with natural grown plants.

In this study, *A. calamus* L. were propagated by tissue culture methods, adapted in *ex vitro* condition and transferred to the open field (*in vivo*), and the secondary metabolites in the plantlets at every step of culture (*in vitro*, *ex vitro*, *in vivo*) were identified through the gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The samples from the leaves, rhizomes, and roots were extracted in n-hexane and performed quantitative determination of phytochemical constituents. Totally 55 compounds were found in the samples such as methylisoeugenol (0.05-9.18%), shyobunone (0.03-1%), acoradiene (0.05-2.86%), α -pinene (0.09-0.51%), β -selinene (0.26-6.64%). In addition, 33 mono and sesquiterpene compounds including α -pinene, camphene, linalool, geranyl acetate, β -farnesene, curcumin, and nerolidol were detected in the essential oils extracted from *ex vitro* rhizome through the phytochemical quality analysis.

Keywords: Sweet flag (*Acorus calamus* L.), gas chromatography-mass spectrometry, terpenes, essential oil, hexane

Introduction

Ten percent of vascular plants species or 350-500 thousand species are considered to be of medicinal value [1]. One of them is sweet flag which grows to 50-100 cm height [2] in shallow waters along lakes and swamps, and plays an important ecological role in water purification around wetlands [21]. With the range spread across 42 countries the species grows at elevations of 900-1800m above sea level [4], in Mongolia the species occurs in Huvsgul, Khangai, Mongolian Dauria, Khinggan and Eastern Mongolian area [2].

Sweet flag has long been used in traditional Chinese and Indian medicine as a medicinal raw material for neurological diseases, gastrointestinal and respiratory diseases, skin diseases, obesity, diabetes, as well as for pain relief and fever reduction. In addition, it can be used for nutritional, ornamental, ritual, and ecological purposes [5] [6]. In traditional Tibetan and Mongolian medicine, it is used as ingredient in Shudag-4, Shingun-8, Senden-6, and Garid-5 recipes as main and supplemental active compounds, and is the most common herbal ingredient in traditional recipes of the medicinal plants grown in Mongolia [7].

*Corresponding author:

E-mail address: oyunbilegyu@mas.ac.mn

Secondary metabolites in medicinal plants are considered to be highly therapeutic and important for human health. Phytochemical studies of sweet flag have been carried out continuously since 1957. Rhizome and leaf methanol, ethanol, hexane, aqueous extracts, as well as essential oil samples were studied by various instrumental analyzes such as gas, liquid chromatography, nuclear magnetic resonance and more than 140 chemical compounds such as phenylpropanoids, triterpene glycosides, saponins, sesquiterpenoids, monoterpenes, and alkaloids have been identified [4]. The most important of these are α , β asarone, eugenol (phenylpropanoids) and sesquiterpenoid compounds [8].

It is possible to separate active compounds and secondary metabolites from the plant by selecting appropriate solvent for the extract of medicinal plant. The choice of solvent depends on the type of plant and the nature of bioactive compound [9]. One of the major compounds, β -asarone, is a non-polar compound that is readily soluble in hexane, a non-polar solvent [10]. It has also been noted that hexane extract of the rhizome contains an essential oil with β -asarone [11]. Rhizome essential oil is a volatile organic compound containing asarone and terpene, which is highly active against bacteria and fungi, has anti-inflammatory properties, calms the nervous system and has long been used in aromatherapy [12]. Therefore, in order to detect the major compounds, samples were extracted in organic solvents and also isolated essential oils for GC analysis. This method is the most widely used in modern analytical technologies and identifies organic molecules and volatile compounds with a molecular weight of less than 1250 Da [13].

In this study, we have performed comparative phytochemical analysis of the samples from sweet flag in *in vitro*, *ex vitro* and *in vivo*, respectively and identified phenylpropanoid, mono and sesquiterpene compounds.

Material and methods

Phytochemical analysis was performed by GC-MS on two different extracts in order to determine the key active ingredient secondary metabolites

contained in sweet flag.

Methods of phytochemical analysis of n-hexane extract:

Samples of plants grown *in vitro* and *in vivo* were prepared and dried under normal conditions. 200 mg of the ground sample were dissolved in 2 ml of hexane, mixed and incubated on a shaker at 35°C for 2 hours. The prepared extract was thoroughly mixed, 150 μ l was placed in a GC glass container and placed in the fume cupboard for 24 h. Then 1 μ l of the extract was taken and analyzed with QP 2010 Plus (Shimadzu) GC with Agilent HP-5 MS (20m x 0.18mm, 0.18 μ m) capillary column. The temperature was raised from 40°C to 120°C (at 2°C min⁻¹, hold 4 min) and then 120°C to 280°C at 30°C min⁻¹ with final hold time of 3 minute. Hydrogen (H₂) was used as carrier gas at a constant flow rate of 4.0 mL min⁻¹. The chromatogram parameters were analyzed in PARADISE and the results were compared with the NIST library based on Retention time (RT).

Methods of phytochemical analysis of essential oils:

The rhizomes of *ex vitro* plants transferred to the greenhouse were dried under normal conditions. The 200g of the dried sample were taken and distilled for essential oil by evaporation in a Clevenger type Ginsberg apparatus for 2h. The sample was placed in a brown glass container, capped, and stored at 4°C in the dark until use. 100 μ l of the 10 times n-hexane-diluted (for GC) sample analyzed in Trace 1310 (Thermo Scientific) GC coupled with a TSQ-8000 MS fused, an Agilent DB-5 MS (30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m) capillary column. The temperature was raised from 70°C to 150°C at 5°C min⁻¹ and again at 3°C min⁻¹ to 250°C and hold for 2 min. Finally, the temperature was raised to 320°C at 10°C min⁻¹ and hold for 3 min. Helium (He) was used as a carrier gas at the constant flow rate of 1.0 mL min⁻¹. The results were compared with the RT of NIST library.

Results

Results of phytochemical analysis of n-hexane extract:

The study quantified and compared secondary metabolites in the leaves, roots, and rhizomes of 5-month-old plantlets (*in vitro*) and those grown for 3 years in greenhouses and

for 1 year in open field (*in vivo*). A total of 55 active compounds have been identified including monoterpenes such as α -pinene and acoradiene, sesquiterpenes such as shyobunone, nerolidol, selinene, aromadendrone, cedrene, and seychellene, and methylisoeugenol of the phenylpropanoid group, as well as heptacosane, heneicosane, octacosane which function as metabolites in plants (Quantitative data for these main chemical compounds shown in Table 1).

Terpene compounds such as α -pinene and cedrene were found about 0.51-1.06% in rhizomes of plants transplanted in the open field (*in vivo*), while those were not detected in samples from *in vitro* condition. The small amount of seychellene included in sesquiterpenes were found in all samples except *in vitro* rhizomes.

The content of major active compounds of sweet flag, such as shyobunone (0.03-1%), nerolidol (0.25-1.27%), acoradiene (0.05-2.86%), and aromadendranes (0.93-4.61%), were comparable in all samples, while β -selinene was absent in the samples of leaves and rhizomes of the *in vitro* plants. The concentration of this compound was the highest at 6.64% in *in vivo*

samples. Concentration of methylisoeugenol for the phenylpropanoid at 9.18% in the samples of leaves of the *in vitro* plants, was much higher than other samples (0.05-0.96%). The vitamin A content was relatively high in all samples, 3.09-9.42%.

The rhizome of sweet flag has wide range of use in medicinal and other manufacturing industries [14]. The results of our study showed that concentration of the major compounds in the rhizomes of plantlets transplanted in the open field, especially mono and sesquiterpenes, were higher than *in vitro* plants (Figure 1).

Plants in nature are easily exposed to various external stresses. For example, under biotic stress, plants produce a large number of chemical compounds to protect themselves. These chemical compounds exist in secondary metabolites in plants and play important biological and pharmacological functions [15]. Therefore, it is possible that the plants we transplanted in the open field produced more secondary metabolites under the influence of external stress.

Terpene compounds were not detected or detected in much small amounts in *in vitro* samples, while

Table 1. Major chemical components identified in the n-hexane extract of different samples of sweet flag

№	Compounds	RT (min)	Content, %				
			<i>in vitro</i> rhizome	<i>in vivo</i> rhizome	<i>in vitro</i> leaves	<i>in vivo</i> leaves	<i>in vivo</i> roots
1	α -Pinene	6.83	-	0.51	0.31	0.09	0.19
2	Acetic acid	19.23	-	0.20	0.43	0.13	1.38
3	Cedrene	21.64	-	1.06	0.10	0.83	0.31
4	Methylisoeugenol	22.38	0.96	t	9.18	t	0.06
5	Acoradiene	22.50	0.12	0.36	t	t	2.86
6	Seychellene	22.55	-	t	t	t	2.12
7	β -Selinene	22.86	-	0.26	-	t	6.64
8	Shyobunone	23.38	t	1.01	0.06	0.09	0.11
9	Nerolidol	24.28	0.59	1.27	0.33	0.25	0.28
10	Aromadendrane	25.47	2.47	1.47	1.21	0.93	4.61
11	Heptacosane	26.21	6.75	3.73	3.54	2.39	5.45
12	Vitamin A aldehyde	26.60	7.74	5.60	3.98	3.09	9.42
13	Heneicosane	26.95	2.21	1.64	1.05	0.65	0.60
14	Octacosane	30.67	0.86	0.51	4.31	5.14	-

t= trace (<0.05%)

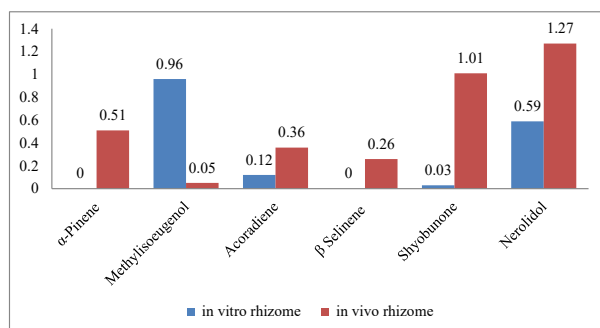


Figure 1. Comparison of major compounds found in rhizome samples (n-hexane extract)

they were defined in 2 to 30 times higher quantities in *in vivo* samples (Figure 1).

Results of phytochemical analysis of essential oils: Qualitative analysis was performed on the essential oil of *ex vitro* plant rhizome, which was transferred to the greenhouse in 2017 and harvested in October 2020. The study identified a total of 33 active compounds including monoterpenes such as

α, β-pinene, camphene, L-limonene, β-cis-ocimene, linalool, geranyl acetate and sesquiterpenes such as α-bergamotene, (E)-β-farnesene, α-curcumene, β-sesquiphellandrene, nerolidol (concentration of these major compounds is shown in Table 2).

Discussion

Since the plant-derived secondary metabolites are synthesized in tissues and cells of living organisms, they have therapeutic properties, biological compatibility and selective action. It also has the advantages of being easily absorbed, distributed, metabolized, excreted, and less toxic [16]. In the world of growing demand for medicinal plants, greens synthesizing active compounds against many diseases and their secondary metabolites are continuously attracting the attention of many researchers [17]. In the current study, phytochemical analysis performed in the samples from sweet flag extracted by different methods and showed that n-hexane extract contained high concentrations

Table 2. Main chemical components identified in the essential oil from the rhizome of sweet flag

№	Compounds	Chemical formula	RT (min)	Category	Usage and importance
1	α-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	4.34	monoterpene	Acts as a metabolite in plants
2	Camphene	C ₁₀ H ₁₆	4.64		Used in perfumes and food flavoring
3	L-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	6.1		Used to flavor food and to add orange flavor
7	β-cis-Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	6.39		Acts as a metabolite in plants
4	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	7.67		Used as a deodorant in sanitary products, antifungal and insecticidal
5	Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	8.97		It has anti-inflammatory, analgesic and insect repellent properties
6	Geranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	14.72		Contains essential oils. Used to add aroma and flavor
7	α-Bergamotene	C ₁₅ H ₂₄	16.11	sesquiterpene	Contains essential oils. Plants emit to protect themselves from herbivores and insects
8	(E)-β-Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	16.61		Contains essential oils. Protects plants from insects
9	α-Curcumene	C ₁₅ H ₂₂	17.05		Used to flavor food
10	Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	19.6		It is a component of essential oils and is used in the manufacture of perfumes. Has antibacterial and antifungal action
11	Acorenone	C ₁₅ H ₂₄ O	23.53		Acts as a metabolite in plants

of phenylpropanoids, mono and sesquiterpene compounds, while terpene compounds highly accumulated in the essential oils from the rhizome of *ex vitro* plants.

In our previous study, phytochemical analysis executed in the methanol extraction of the plants in *in vitro* and in nature, identifying 37 metabolites including amino acids, fatty acids, organic acids, α -selinene, acorenone belonging to sesquiterpenes, D-pinitol, cyclic polyol [14]. In this study, phenylpropanoids, monoterpenes, and sesquiterpene compounds were predominantly identified when n-hexane extract was sampled. Polar compounds are more soluble in polar solvents whereas non-polar compounds are more readily dissolved in non-polar ones [10]. Selinene belongs to the sesquiterpene was found in *in vitro* samples, not in natural samples [14], while it showed reverse results in our study. In detail, it was not detected in *in vitro* samples and detected in *in vivo* samples at 0.04-6.64%. This performance was similar to the results of the study by Shatar *et al.* (0.7%) in 1995 [18]. Because selinene acts as metabolite in plants and is synthesized during pathogenic infections [19], essential oils with high β -selinene content (37-57%) are used as anti-inflammatory, fever, and as an analgesic [20]. Methylisoeugenol, one of the major compounds, was found at 9.18% in samples of leaves of *in vitro* plants, which was significantly higher than in all other samples (0.05-0.96%). This compound is synthesized under the influence of physical factors and protects plants, and is more abundant in leaves of sweet flag [15]. However, in our study, higher concentrations of the compounds were found in *in vitro* samples, that may be due to physical factors such as light, heat, light intensity, tissue damage, and artificial culture during tissue culture. Eugenol is an antibacterial, anti-inflammatory, analgesic, and antioxidant active compound [21]. Phenylpropanoid compounds are commonly found in aromatic and medicinal plants [24]. In our study of n-hexane extract, the vitamin A content was 7.74% in *in vitro* rhizome and 5.6% in *in vivo*, whereas beta-carotene, a precursor to vitamin A, was found at 2.43 mg/mL in rhizome

samples in other study by Soman *et al.*, 2014 [22]. These results indicate that medicinal important compounds are being synthesized to usable extent in the samples produced by tissue culture methods, and in some cases, it is also possible to increase their accumulation through the effect of tissue culture technique.

In analysis of essential oils, monoterpenes such as α -pinene, camphene, camphor, linalool, limonene, and terpinen, as well as sesquiterpenes such as nerolidol, aromadendrane, curcumen, and acorenone were detected which are similar to results of studies conducted by other researchers [17][18][25] (Table 3). For example, α -pinene was found in both samples, 0.51% in *in vivo* rhizomes, 0.09% in leaves, which is similar to 0.06% reported in Nepalese studies [10], and 0.7% the study by Shatar *et al.* [25]. α -pinene is a compound that strongly inhibits the enzyme acetylcholinesterase [25].

In addition, the compounds identified in the sample materials, such as methylisoeugenol, nerolidol, geranyl acetate, and linalool have a pleasant odor and are used in perfumes, cosmetics, and household products [21][26], camphene, limonene, curcumen and farnesene are used to add flavor and aroma to food [25]. These compounds have antibacterial, antifungal, antiviral, anti-oxidant, anti-inflammatory and cancer suppressing properties [21][25]. Based on the benefits of sweet flag produced by tissue culture method, it can be used in traditional medicine, food, household and cosmetic products, as well as to increase natural resources.

Table 3. Comparison of the results of phytochemical analysis of current study to results of other studies

Compounds		Compound classification	Imam <i>et al.</i> , 2013 (<i>alcohol extract</i>)	Raviraja <i>et al.</i> , 2015 (<i>essential oil</i>)	Raal <i>et al.</i> , 2016 (<i>essential oil</i>)	Raina <i>et al.</i> , 2002 (<i>essential oil</i>)	Sharma <i>et al.</i> , 2020 (review)	Samaneh <i>et al.</i> , 2017 (<i>essential oil</i>)	Todorova <i>et al.</i> , 1995 (<i>essential oil</i>)	Oyumbileg <i>et al.</i> , 2016 (<i>methanol extract</i>)	This study (<i>n-hexane extract</i>)	This study (<i>essential oil</i>)
α -Asarone	2x	phenylpropanoid	+	+					very low			
	3x											
	4x											
β -Asarone	2x		11	5	3-19			0.2-3				
	3x											
	4x											
Methylisoeugenol			+	+	0.6-1	0.6	+	0.7-3	0.8		0.05-9.18	
Shyobunone		+	+	13.7		+	7.57	0.5		0.03-1		
Isoshyobunone		8.6	+	0.5-2.3		+		13.1				
Acorenone			+	0.8-27.5		+		14.4	+		+	
α -Selinene		5.0	+			+	3.78	0.7	<i>only in vitro</i>	β -selinene 0.04-6.64		
Aromadendrane				0.2-0.3						0.93-4.61		
Nerolidol				0.1-0.5						0.25-1.27	+	
α -Pinene		+		0.1-0.3	very low	+		0.7		0.1-0.51	+	
Geranyl acetate			+								+	

Conclusion

Our phytochemical studies of *in vitro*, *ex vitro* and *in vivo* tissue culture samples revealed the presence of key compounds such as mono, sesquiterpene and phenols. Therefore, this species cultivated using biotechnological methods can be further utilized for medicinal and other industrial purposes.

Acknowledgements

This research was funded by the Ministry of Education, Culture and Science and the Science and Technology Foundation and carried out at the Plant Biotechnology Laboratory as part of the Basic Study on “Biotechnological Basis for the Protection of the Gene Pool of Some Rare Medicinal Plants in Mongolia” (Sh 2017/2019). I would also like to thank N. Javzmaa, a researcher at the Laboratory

of the Natural Integration Chemical of the Institute of Chemistry and Chemical Technology, for her in-depth assistance in carrying out the experiments.

References

- [1] Salmerón-Manzano E., Garrido-Cardenas J. A., Manzano-Agugliaro F. Worldwide research trends on medicinal plants. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17, 2020. p3376
- [2] Нямбаяр Д., Оюунцэцэг Б., Тунгалаг Р. Монголын ургамлын улаан данс ба хамгааллын төлөвлөгөөний эмхэтгэл. УБ, 2012. х78
- [3] Shu H., Zhang S., Lei Q. Y., Zhou J., Ji Y. Y.,

- ...Long Ch., Ethnobotany of *Acorus* in China. The Journal of Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 87(2), 2018. p3585
- [4] Sharma V., Sharma R., Gautam D. S., Kuca K., Nepovimova E., Martins N. Role of Vacha (*Acorus calamus* Linn.) in neurological and metabolic disorders: Evidence from ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and clinical study. Journal of Clinical Medicine, (9)4, 2020. p1176
- [5] Imam H., Riaz Z., Azhar M., Sofi G., Hussain A. Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.): An incredible medicinal herb. International Journal of Green Pharmacy, 7(4), 2013. p288-296
- [6] Mukherjee P. K., Kumar V., Mal M., Houghton P. J. *Acorus calamus*: Scientific validation of Ayurvedic tradition from natural resources. Journal of Pharmaceutical Biology, 45(8), 2008. p651-666
- [7] Мэндсайхан З., Ариунаа З., Пүрэвжав М. Эмт ургамал, 2-р боть. УБ, 2016. х305-308
- [8] Raviraja G. Sh., Shruthi A. M. A review on pharmacology of *Acorus calamus* - an endangered medicinal plant. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 6(1), 2015. p605-621
- [9] Abubakar A. R and Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. Journal of Pharmacy and BioAllied Sciences, 12(1), 2020. p1-10
- [10] Syarif R. A., Rasyid R and Najib A. Dringo rhizome (*Acorus calamus* L.): A potential source high β -asarone. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(3), 2015. p258-261
- [11] Hartati S., Soemiati A., Eka I. A. Isolasi β -asaron dari Rimpang Dringo (*Acorus calamus* Linn.) serta Uji Aktivitas Antimikroba. Jurnal Bahan Alam Indonesia, 8(2), 2012. p85
- [12] Imam H., Riaz Z., Azhar M., Sofi G., Hussain A. Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.): An incredible medicinal herb. International Journal of Green Pharmacy, 7(4), 2013. p288-296
- [13] Turner D. Gas Chromatography - How a Gas Chromatography Machine Works, How to Read a Chromatograph and GCxGC. Retrieved from <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/gas-chromatography-how-a-gas-chromatography-machine-works-how-to-read-a-chromatograph-and-gcxcgc-335168>, 2021.03.17
- [14] Deepalakshmi P. D., Khongorzul O., Thirugnanasambantham P., Oyunbileg Yu., Altanzul Kh., Senthil K. Metabolite profiling of *In vitro* cultured and field grown rhizomes of *Acorus calamus* from Mongolia using GC-MS. Journal of Chromatographia, 79(19-20), 2016. p1359-1371
- [15] Tan K. H., Nishida R. Methyl eugenol: Its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. Journal of Insect Science, 12(56), 2011. p1-74
- [16] Одонтуяа Г. Эмийн ургамал- эмчилгээний идэвхт нэгдэл. Хими, химийн технологийн хүрээлэнгийн эрдэм шинжилгээний бүтээл №6, 2018. х21-28
- [17] Оюунбилэг Ю ба бусад. “Хуруу шилэн доторх ургамал-2”, УБ, 2017. х83-120
- [18] Todorova M. N., Ognyanov I. V., Shatar S. Chemical composition of essential oil from Mongolian *Acorus Calamus* L. rhizomes. Journal of Essential Oil Resources, 7(2), 1995. p191-193
- [19] Ding Ye., Huffaker A., Köllner T. G., Weckwerth Ph., Robert A. M., ...Schmelz E.

- A. Selinene volatiles are essential precursors for maize defense promoting fungal pathogen resistance. *Journal of Plant Physiology*, 175(3), 2017. p1455-1468
- [20] Chandra D., Prasad K., Kohli G., Bisht G., Punetha V. D., ...Pandey H. K. Essential oil composition of *Acorus calamus* from district-Pithoragarh, Uttarakhad, India. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(9), 2015. p1158-1166
- [21] Nejad S. M., Özgüneş H., Başaran N. Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 2017. p201-206
- [22] Soman M., Chandran P., Nair R., Vinod V. M., Kesavamongalam Sh. P., Nair Govindapillai A. N. Nutritional and anti-nutritional status of *Acorus calamus* L. rhizome. *Journal of Food Science and Technology*, 15(1), 2014. p51-59
- [23] Raal A., Orav A., Gretchushnikova T. β -Asarone content and essential oil composition of *Acorus calamus* L. rhizomes from Estonia. *Journal of Essential Oil Research*, 28(4), 2016. p299-304
- [24] Raviraja G. Sh., Shruthi A. M. A review on pharmacology of *Acorus calamus* - an endangered medicinal plant. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 6(1), 2015. p605-621
- [25] Gyawali R and Kim K. S. Volatile organic compounds of medicinal values from Nepalese *Acorus calamus* L. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, 5(2), 2009. p51- 65
- [26] Chan W. K., Tan L. T., Chan K. G., Lee L. H., Goh B. H. Nerolidol: A sesquiterpene alcohol with multi-faceted pharmacological and biological activities. *Journal of Molecules*, 21(5), 2016. p529



***In vitro*-д өсгөвөрлөсөн Эгэл годил өвс (*Acorus calamus* Linn.)-ний фитохимийн судалгаа**

Мөнхцэцэгийн Сэлэнгэ, Өлзийбатын Болортуяа, Юнгэрээгийн Оюунбилэг*

Шинжлэх ухааны академи, Биологийн хүрээлэн, Ургамлын биотехнологийн лаборатори

Хүлээн авсан 2021.6.7; Хянан тохиолдуулсан 2021.10.15; Зөвшөөрсөн 2021.11.10

Хураангуй

Монгол орны улаан номонд бүртгэгдсэн нэн ховор зүйл Эгэл годил өвс нь фенилпропаноид, флавоноид, моно болон сесквитерпенүүдээс бүрдсэн 140 гаруй биологийн идэвхт нэгдэл агуулдаг олон наст өвслөг ургамал юм. Дорнын уламжлалт анагаах ухаанд нэн эртнээс хэрэглэж ирсэн эмийн болон экологийн өндөр ач холбогдолтой Эгэл годил өвсийг дэлхийн олон оронд эм, хүнс, гоо сайхны үйлдвэрлэлд ашигладаг бөгөөд Монгол орны уламжлалт эм тангийн жоронд орох давтамжаар тэргүүлдэг. Эгэл годил өвсний тархац нөөц багасаж, байгаль дээр сэргэн ургах боломж буурсан өнөө үед орчин үеийн дэвшилтэт технологи ашиглан лабораторийн нөхцөлд олшруулан тарималжуулж, тэдгээрийн ашигт бодисын агууламжийг байгалийн ургамалтай харьцуулан тодорхойлсноор эм болон бусад эцсийн бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлийн түүхий эдийн нөөц бүрдүүлэх боломжтой юм.

Энэхүү судалгаагаар Эгэл годил өвсийг эдийн өсгөврийн аргаар олшруулан, хөрсөнд дасгаж, улмаар бичил ургамалд агуулагдах хоёрдогч метаболитын агууламжийг хийн хроматограф-масс спектрометрийн аргаар тодорхойлсон. Ургамал тус бүрийн навч, үндэс, үндэслэг ишний ялгаатай дээжүүдийг гександ хандлан фитохимийн тоон тодорхойлолт хийхэд голлох нэгдлүүд болох метилизоэвгенол (0.05-9.18%), шиобунон (0.03-1%), акорадиен (0.05-2.86%), α -пинен (0.09-0.51%), β -селинен (0.26-6.64%) болон неролидол, аромандрен зэрэг нийт 55 нэгдэл илэрсэн. Мөн *ex vitro*-д дасгасан ургамлын үндэслэг ишнээс ялгасан эфирийн тосонд фитохимийн чанарын анализ хийж α -пинен, камфен, линалоол, геранил ацетат, β -фарнесен, куркумен, неролидол зэрэг 33 моно болон сесквитерпент нэгдэл тодорхойлсон.

Түлхүүр үгс: Эгэл годил өвс (*Acorus calamus* L.), хийн хроматографи-масс спектрометр, терпент нэгдэл, эфирийн тос, гексан

Оршил

Гуурст ургамлын 10% буюу 350-500 мянган зүйл нь эмийн ач холбогдолтой гэж үздэг [1]. Үүний нэг Эгэл годил өвс нь 50-100 см өндөр ургадаг олон наст өвслөг ургамал [2] бөгөөд ус, нуурын эрэг, намаг дагуух гүехэн усанд ургаж намгархаг газрын эргэн тойронд ус хадгалах, цэвэршүүлэх экологийн чухал үүрэгтэй [3]. Дэлхийн 42 улсад тархсан энэ зүйл далайн түвшнээс дээш 900-1800м-ийн өндөрт ургадаг

[4] бөгөөд Монгол орны Хөвсгөл, Хангай, Монгол Дагуур, Хянган, Дорнод Монголын тойрогт тохиолдоно [2].

Эрт дээр үеэс Хятад, Энэтхэгийн уламжлалт анагаах ухаанд мэдрэлийн өвчин, хоол боловсруулах болон амьсгалын замын өвчин, арьсны өвчин, таргалалт, чихрийн шижингийн эсрэг, түүнчлэн өвчин намдаах, халуун бууруулах зорилгоор эмийн түүхий эд болгон хэрэглэж ирсэн. Үүнээс гадна хүнс

*Холбоо барих зохиогч

E-mail address: oyunbilegyu@mas.ac.mn

тэжээлийн, гоёл чимэглэлийн, зан үйлийн, экологийн зорилгоор ашиглах нь бий [5][6]. Төвд, Монголын уламжлалт эмнэлэгт Шудаг-4, Шингүн-8, Сэндэн-6, Гарьд-5 зэрэг жоруудад хөл, толгой эм болгон хэрэглэдэг төдийгүй Монгол оронд ургадаг ургамлын дотор тангийн жоронд орох давтамжаар тэргүүлдэг [7].

Эмийн ургамал дахь хоёрдогч метаболит нь эмчилгээний өндөр идэвхтэй, хүний эрүүл мэндэд ихээхэн ач холбогдолтой гэж үздэг. Эгэл годил өвсний фитохимийн судалгаа 1957 оноос эхлэн өнөөг хүртэл тасралтгүй хийгдэж байна. Үндэслэг иш болон навчны метанол, этанол, гексан, усан хандууд, мөн эфирийн тосны дээжүүдийг хий, шингэний хроматограф, цөмийн соронзон резонанс зэрэг багажит анализийн олон аргаар судалж фенилпропаноид, тритерпен гликозид, сапонин, сесквитерпеноид, монотерпен, алкалоид зэрэг 140 гаруй химийн нэгдэл илрүүлсэн [4]. Үүнээс голлох үйлчилгээтэй нь α , β азарон, эвгенол (фенилпропаноидууд) болон сесквитерпеноид нэгдлүүд юм [8].

Эмийн ургамлыг хандлахдаа тохиромжтой уусгагчийг сонгож, зөв хандласанаар ургамлаас идэвхтэй нэгдлүүд, хоёрдогч метаболитуудыг ялгах боломжтой болдог. Уусгагчийг сонгох нь ургамлын төрөл, биоидэвхт нэгдлийн шинж чанар зэргээс хамаарна [9]. Голлох нэгдлүүдийн нэг β азарон нь туйлгүй нэгдэл учраас туйлгүй уусгагч болох гександ уусгахад хялбар салдаг [10]. Мөн үндэслэг ишний гексан ханд нь β азарон бүхий эфирийн тосыг агуулдаг хэмээн тэмдэглэсэн байдаг [11]. Үндэслэг ишний эфирийн тос нь азарон болон терпент нэгдлүүдийг агуулдаг дэгдэмхий органик нэгдэл бөгөөд бактери, мөөгөнцрийн эсрэг өндөр идэвхтэй, үрэвсэл намдаах үйлдэлтэй, мэдрэлийн системийг тайвшруулдаг төдийгүй үнэртний охь болгож хэрэглэсээр ирсэн [12]. Үүнээс үүдэн голлох нэгдлүүдийг илрүүлэх зорилгоор дээжүүдийг органик уусгагчинд уусгасан болон эфирийн тос байдлаар бэлтгэн хийн хроматографийн аргаар шинжлэв. Энэхүү арга нь орчин үеийн шинжилгээний

технологуудаас хамгийн түгээмэл хэрэглэгддэг бөгөөд 1250 Да-аас бага молекул жинтэй органик молекулууд, дэгдэмхий нэгдлийг тодорхойлдог [13].

Бид энэхүү судалгаагаар Эгэл годил өвсний *in vitro* болон *ex vitro*, *in vivo*-д шилжүүлсэн ургамлын ялгаатай дээжүүдэд фитохимийн харьцуулсан судалгааг хийж фенилпропаноид, моно болон сесквитерпент нэгдлүүдийг тодорхойлов.

Судалгааны материал, арга зүй

Эгэл годил өвсөнд агуулагдах голлох үйлчилгээтэй хоёрдогч метаболитуудыг тодорхойлох зорилгоор ялгаатай хоёр ханданд хийн хроматограф-масс спектрометрийн аргаар фитохимийн анализыг гүйцэтгэв.

Гексан ханданд хийсэн фитохимийн шинжилгээний арга зүй: *In vitro* болон *in vivo* нөхцөлд ургаж буй ургамлаас дээж материалыг бэлдэн ердийн нөхцөлд хатааж бэлтгэв. Дээжийг нунтагласаны дараа 200мг-ийг 2мл н-гександ уусгаж холин, 35°C-т 2 цаг сэгсэрсэн. Бэлтгэсэн хандыг сайтар хольж 150 мкл-г GC-н зориулалтын шилэн саванд хийн татах шүүгээнд 24 цаг хадгалсны дараа ханднаас 1 мкл-г авч QP 2010 Plus (Shimadzu) хийн хроматографид шинжлэв. Agilent HP-5 MS (20м x 0.18мм, 0.18мкм) капиляр колонк ашиглан, температурыг 40°C-ээс эхлэн 2°C/мин давтамжаар 120°C хүртэл халаан 4 минут барьж, дахиад 30°C/мин давтамжаар 280°C болтол халааж 3 минут барив. Хөдөлгөөнт фазаар 4.0 мл/мин хурдтай урсах устөрөгчийн хийг ашиглав. Хроматограммын үзүүлэлтийг “PARADISE”-р шинжилж, үр дүнг RT (Retention time) буюу баригдах хугацаанд үндэслэн “NIST” цахим лавлахтай харьцуулан тогтоов.

Эфирийн тосонд хийсэн фитохимийн шинжилгээний арга зүй: Хүлэмжинд шилжүүлсэн бичил ургамлын (*ex vitro*) үндэслэг ишийг ердийн нөхцөлд хатааж бэлтгэв. Хатааж жижиглэсэн дээжнээс 200гр-ийг авч эфирийн тосыг усан ууршуулалтын аргаар Клевэнжэр загварын Гинзбергийн аппаратанд 2 цагийн

турш нэрж гарган авав. Дээжийг бор шилэн саванд хийж таглан, хэрэглэх хүртэл харанхуй нөхцөлд, 4°C-т хадгалсан. Гексан (GC-ийн зориулалтын)-д 10 дахин шингэлсэн дээжнээс 100 мкл-ийг авч TSQ-8000 масс спектрометртэй холбосон “Trace 1310 (Thermo Scientific)” хийн хроматографид шинжлэв. “Agilent DB-5 MS” (30м x 0.25мм, 0.25мкм) капиляр колонк ашиглан, температурыг 70°C-ээс эхлэн 5°C/мин давтамжаар 150°C болтол халааж, дахин 3°C/мин давтамжаар 250°C болтол халааж 2 минут барив. Эцэст нь 10°C/мин давтамжаар 320°C болтол халааж 3 минут барив. Хөдөлгөөнт фазаар 1.0 мл/мин хурдтай урсах гелийн (He) хийг ашиглав. Үр дүнг RT (Retention time) буюу баригдах хугацаагаар нь “NIST” цахим лавлахтай харьцуулан тогтоов.

Судалгааны үр дүн

Гексан ханданд хийсэн фитохимийн шинжилгээний үр дүн: Энэхүү судалгаагаар 5 сартай бичил ургамал (*in vitro*) болон хүлэмжинд 3 жил өнжөөж ил талбайд 1 жил ургуулсан эдийн өсгөврийн аргаар гарган авсан ургамал (*in vivo*)-ын навч, үндэс, үндэслэг ишинд агуулагдах хоёрдогч метаболитыг тоон тодорхойлолтоор илэрхийлж харьцуулав. Судалгааны үр дүнд α-пинен, акорадиен

зэрэг монотерпенүүд, шиобунон, неролидол, селинен, аромадендрен, цедрен, сейшеллен зэрэг сесквитерпенүүд болон фенилпропаноид бүлгийн метилизоэвгенол, түүнчлэн ургамалд метаболитын үүрэгтэй оролцдог гептакозан, генейкозан, октакозан зэрэг нийт 55 нэгдэл илэрсэн (Эдгээр голлох нэгдлүүдийн хэмжээг 1-р хүснэгтэд үзүүлэв).

α-пинен, цедрен зэрэг терпент нэгдлүүд *in vitro* ургамлын үндэслэг ишинд илрээгүй бол ил талбайд шилжүүлсэн (*in vivo*) ургамлын үндэслэг ишинд 0.51-1.06%-тай байв. Сесквитерпент нэгдэл болох сейшеллений хувьд *in vitro* ургамлын үндэслэг ишнээс бусад бүх дээжүүдэд бага хэмжээгээр илэрсэн.

Эгэл годил өвсний голлох нэгдлүүд болох шиобунон (0.03-1%), неролидол (0.25-1.27%), акорадиен (0.05-2.86%) болон аромадендрен (0.93-4.61%) зэрэг нь бүх дээжид ойролцоо хэмжээнд тодорхойлогдсон бол β-селинен *in vitro* ургамлын навч, үндэслэг ишний дээжид илрээгүй байна. Тухайн нэгдлийн агууламж *in vivo* нөхцөлд ургаж буй ургамлын үндсэнд хамгийн их буюу 6.64% байв. Фенилпропаноид бүлгийн метилизоэвгенол нь *in vitro* навчинд 9.18% байсан нь бусад дээжнүүдээс (0.05-0.96%) илт давуу үзүүлэлт юм. Харин витамин

1-р хүснэгт. Эгэл годил өвсний ялгаатай дээжүүдийн гексан ханданд тодорхойлогдсон голлох химийн бүрэлдэхүүн хэсгүүд

№	Нэгдлийн нэр	RT (мин)	Агууламж, %				
			<i>in vitro</i> үндэслэг иш	<i>in vivo</i> үндэслэг иш	<i>in vitro</i> навч	<i>in vivo</i> навч	<i>in vivo</i> үндэс
1	α-Pinene	6.83	-	0.51	0.31	0.09	0.19
2	Acetic acid	19.23	-	0.20	0.43	0.13	1.38
3	Cedrene	21.64	-	1.06	0.10	0.83	0.31
4	Methylisoeugenol	22.38	0.96	t	9.18	t	0.06
5	Acoradiene	22.50	0.12	0.36	t	t	2.86
6	Seychellene	22.55	-	t	t	t	2.12
7	β Seline	22.86	-	0.26	-	t	6.64
8	Shyobunone	23.38	t	1.01	0.06	0.09	0.11
9	Nerolidol	24.28	0.59	1.27	0.33	0.25	0.28
10	Aromadendrane	25.47	2.47	1.47	1.21	0.93	4.61
11	Heptacosane	26.21	6.75	3.73	3.54	2.39	5.45
12	Vitamin A aldehyde	26.60	7.74	5.60	3.98	3.09	9.42
13	Heneicosane	26.95	2.21	1.64	1.05	0.65	0.60
14	Octacosane	30.67	0.86	0.51	4.31	5.14	-

t= trace (<0.05%)

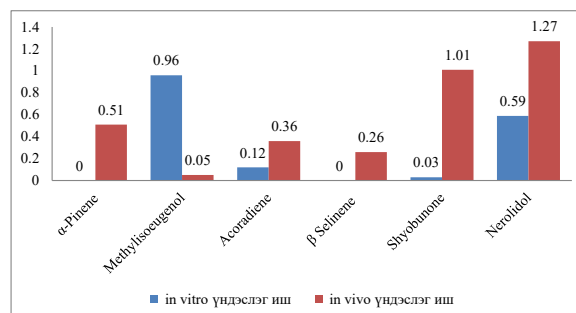
А-ийн агууламж бүх дээжүүдэд харьцангуй өндөр буюу 3.09-9.42%-тай байлаа.

Эгэл годил өвсний үндэслэг ишийг эмийн болон үйлдвэрлэлийн зориулалтаар голчлон хэрэглэж ирсэн [14]. Бидний судалгааны үр дүнгээс харахад ил талбайд шилжүүлсэн бичил ургамлын үндэслэг ишин дэх голлох нэгдэл, ялангуяа моно болон сесквитерпенүүд *in vitro* ургамалтай харьцуулахад илүү хэмжээтэй байв (1-р зураг).

Байгаль дээрх ургамал гадны төрөл бүрийн стресст амархан өртдөг. Тухайлбал биотик стрессийн нөлөөгөөр ургамал олон тооны химийн нэгдлүүдийг нийлэгжүүлэн өөрийгөө хамгаалж байдаг. Эдгээр химийн нэгдлүүд нь ургамалд хоёрдогч метаболит байдлаар оршиж биологи, фармакологийн чухал идэвх үзүүлдэг [15]. Иймээс бидний ил талбайд шилжүүлэн тарьсан ургамал гадны стрессийн нөлөөгөөр илүү их хэмжээний хоёрдогч метаболитуудыг нийлэгжүүлсэн байх магадлалтай.

Терпент нэгдлүүд нь *in vitro* дээжүүдэд илрээгүй юмуу бага хэмжээгээр илэрсэн, харин *in vivo* дээжид 2-30 дахин илүү хэмжээтэй нийлэгжсэн байв (1-р зураг).

Эфирийн тосонд хийсэн фитохимийн шинжилгээний үр дүн: 2017 онд хүлэмжинд шилжүүлж 2020 оны 10 сард хураан авсан *ex vitro* ургамлын үндэслэг ишний эфирийн тосонд чанарын анализ хийв. Судалгааны үр дүнд α , β -пинен, камфен, L-лимонен, β -цис-окимен, линалоол, геранил ацетат зэрэг монотерпент



1-р зураг. Үндэслэг ишний дээжүүдэд (гексан ханданд) илэрсэн голлох нэгдлүүдийг харьцуулсан нь

2-р хүснэгт. Эгэл годил өвсний үндэслэг ишний эфирийн тосонд тодорхойлогдсон голлох химийн бүрэлдэхүүн хэсгүүд

№	Нэгдлийн нэр	Химийн томъёо	RT (мин)	Хэрэглээ, ач холбогдол
Ангилал: монотерпен				
1	α -Pinene	$C_{10}H_{16}$	4.34	Ургамалд метаболитын үүрэгтэй
2	Camphene	$C_{10}H_{16}$	4.64	Үнэртэн бэлтгэх болон хүнсэнд амт оруулах зорилгоор хэрэглэдэг
3	L-Limonene	$C_{10}H_{16}$	6.1	Хүнсэнд амт оруулах зорилгоор, мөн жүржийн үнэр оруулах зорилгоор хэрэглэдэг
7	β -cis-Ocimene	$C_{10}H_{16}$	6.39	Ургамалд метаболитын үүрэгтэй
4	Linalool	$C_{10}H_{18}O$	7.67	Ариун цэврийн бүтээгдэхүүнд үнэр оруулагчаар ашигладаг, мөөгөнцрийн эсрэг, инсектицид шинжтэй
5	Camphor	$C_{10}H_{16}O$	8.97	Үрэвслийн эсрэг, өвчин намдаах мөн шавьж үргээх үйлдэлтэй
6	Geranyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	14.72	Эфирийн тосны найрлагад ордог. Анхилуун үнэр оруулах, амт оруулах зорилгоор хэрэглэдэг
Ангилал: сесквитерпен				
7	α -Bergamotene	$C_{15}H_{24}$	16.11	Эфирийн тосны найрлагад ордог. Ургамал өвсөн тэжээлтэн болон шавьжнаас өөрийгөө хамгаалахын тулд ялгаруулдаг
8	(E)- β -Farnesene	$C_{15}H_{24}$	16.61	Эфирийн тосны найрлагад ордог. Ургамал шавьжнаас хамгаалахын тулд ялгаруулдаг
9	α -Curcumene	$C_{15}H_{22}$	17.05	Хүнсэнд амт оруулах зорилгоор хэрэглэдэг
10	Nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	19.6	Эфирийн тосны найрлагад ордог, сүрчигний үйлдвэрлэлд хэрэглэгддэг. Бактерийн, мөөгөнцрийн эсрэг үйлдэлтэй
11	Acorenone	$C_{15}H_{24}O$	23.53	Ургамалд метаболитын үүрэгтэй

нэгдлүүд, α -бергамотен, (E)- β -фарнесен, α -куркумен, β -сесквифелландрен, неролидол зэрэг сесквитерпенүүд болох нийт 33 нэгдэл илэрсэн (Эдгээр голлох нэгдэлүүдийн хэмжээг 2-р хүснэгтэд үзүүлэв).

Хэлэлцүүлэг

Ургамлын гаралтай хоёрдогч метаболит нь амьд биеийн эд, эсэд үүсэж байдаг тул эмчилгээний шинж чанар, биологийн нийцэл сайтай, сонгомол үйлдэлтэй байдаг. Мөн биед шингэх шингэц, тархалт, бодисын солилцоонд оролцох, гадагшлах нь илүү хялбар, хоруу чанар багатай зэрэг давуу талуудтай [16]. Дэлхий нийтэд эмийн ургамлын хэрэгцээ жилээс жилд өсөн нэмэгдэж буй өнөө үед олон төрлийн өвчний эсрэг идэвхтэй эмийн ургамлууд, тэдгээрээс ялгасан хоёрдогч метаболитууд нь судлаачдын анхаарлыг ихээхэн татсаар байна [17]. Энэхүү судалгаагаар Эгэл годил өвсний ялгаатай аргаар бэлтгэсэн дээжүүдэд фитохимийн анализ хийхэд гексан ханданд фенилпропаноид, моно болон сесквитерпент нэгдлүүд, үндэслэг ишнээс ялгасан эфирийн тосонд терпент нэгдлүүд түлхүү агуулагдаж байв.

Бидний өмнөх судалгаанд *in vitro* болон байгалийн ургамлын үндэслэг ишнээс метанолон ханд бэлдэж, фитохимийн анализ хийхэд амин хүчил, тосны хүчил, органик хүчлүүд, мөн α -селинен, акоренон зэрэг сесквитерпенүүд, д-пинитол зэрэг нийт 37 нэгдэл илэрсэн [13]. Харин энэ удаагийн судалгаанд дээж материалыг гександ хандлахад фенилпропаноид, монотерпен, сесквитерпент бүлгийн нэгдлүүд илүү тодорхойлогдсон. Метанол нь туйлтай уусгагч учраас туйлтай нэгдлүүдийг, харин гексан туйлгүй уусгагч учраас туйлгүй нэгдлүүдийг илүүтэйгээр уусгадаг [10]. Сесквитерпент бүлгийн нэгдэл селинен нь байгалийн дээжид илрээгүй, зөвхөн *in vitro* дээжид илэрсэн [14] бол бидний судалгаагаар *in vitro* дээжид бус *in vivo* дээжүүдэд 0.04-6.64%-тай тодорхойлогдсон. Энэ үзүүлэлт Шатар нарын 1995 оны судалгааны үр дүнтэй (0.7%) ойролцоо байлаа [18]. Селинен нь ургамалд метаболитын үүрэг гүйцэтгэдэг бөгөөд эмгэг

төрүүлэгчдийн халдварын үед нийлэгждэг [19] тул β -селинений агууламж их (37-57%) эфирийн тосыг үрэвслийн үед, халуурахад, мөн өвчин намдаах эм болгон ашигладаг [20]. Мөн голлох нэгдлийн нэг метилизоэвгенол нь *in vitro* навчинд 9.18% илэрсэн нь бусад дээжнээс (0.05-0.96%) илт давуу байв. Энэхүү нэгдэл нь физик хүчин зүйлийн нөлөөнд нийлэгжиж ургамлыг хамгаалдаг бөгөөд Эгэл годил өвсний ногоон навчинд илүү их хэмжээгээр нийлэгждэг [15]. Харин бидний судалгаагаар *in vitro* дээжүүдэд илүү хэмжээтэй илэрсэн нь эдийн өсгөврийн явцад тохиолдох гэрэл, дулаан, гэрлийн эрчим, эдийг гэмтээх, зохиомол орчинд өсгөвөрлөх зэрэг физик хүчин зүйлсийн нөлөө байх боломжтой. Эвгенол нь нянгийн эсрэг, үрэвслийн эсрэг, өвдөлт намдаах үйлдэлтэй, антиоксидант идэвхтэй нэгдэл юм [21]. Фенилпропаноид бүлгийн нэгдлүүд ихэвчлэн үнэрт болон эмийн ургамлуудад агуулагддаг [15]. Бидний гексан ханданд хийсэн судалгаагаар витамин А-ийн агууламж *in vitro* үндэслэг ишинд 7.74%, *in vivo*-д 5.6% байсан бол Соман нарын 2014 оны судалгаагаар витамин А-ийн урьтал нэгдэл болох бета-каротин үндэслэг ишний дээжид 2.43мг/мл хэмжээгээр илэрсэн байна [22]. Эдгээрээс харахад, эмийн ач холбогдол бүхий чухал нэгдлүүд биотехнологийн аргаар гарган авсан дээж материалд хэрэглэхүйц хэмжээнд нийлэгжиж байгаа бөгөөд зарим тохиолдолд эдийн өсгөврийн техникийн нөлөөгөөр агууламжийг нэмэгдүүлэх боломжтой юм.

Харин бидний эфирийн тосонд хийсэн судалгаагаар α -пинен, камфен, камфор, линалоол, лимонен, терпинен зэрэг монотерпенүүд, неролидол, аромадендрен, куркумен, акоренон зэрэг сесквитерпенүүд илэрсэн нь бусад судлаачдын үр дүнтэй [18][23] [24] ойролцоо байна (3-р хүснэгт). Тухайлбал α -пинен 2 дээжний аль алинд илэрсэн бөгөөд *in vivo* үндэслэг ишинд 0.51%, навчинд 0.09% байсан нь Непалийн эрдэмтдийн судалгаагаар 0.06% [25], Шатар нарын судалгаагаар 0.7% [18] илэрсэн үр дүнтэй ойролцоо байна. α -пинен нь ацетилхолинэстераза энзимийг хүчтэй дарангуйлдаг нэгдэл юм [25].

Түүнчлэн дээж материалуудад тодорхойлогдсон метилизоэвгенол, неролидол, геранил ацетат, линалоол зэрэг нэгдлүүд нь тааламжтай үнэртэй тул үнэртэн, гоо сайхан, ахуйн бүтээгдэхүүнд анхилуун үнэр оруулах зорилгоор [21] [26], камфен, лимонен, куркумен, фарнесен зэрэг нэгдлүүдийг хүнсний бүтээгдэхүүнд тааламжтай амт, үнэр оруулах зорилгоор хэрэглэдэг [25]. Эдгээр нэгдлүүд нь бактер, мөөгөнцөр, вирусын эсрэг үйлдэлтэй, антиоксидант шинж чанартай бөгөөд үрэвсэл болон хавдрын эсрэг үйлчилгээтэй нэгдлүүд юм [21][25]. Бичил үржүүлгээр гарган авсан Эгэл годил өвсний энэхүү ашигт чанарт үндэслэн уламжлалт анагаах ухаан, хоол хүнс, ахуйн болон гоо сайхны бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлд хэрэглэх, мөн нөөцийг бүрдүүлэх боломжтой юм.

Дүгнэлт

Бидний *in vitro*, *ex vitro* болон *in vivo*-д шилжүүлсэн бичил ургамлын дээжүүдэд хийсэн фитохимийн судалгаагаар моно, сесквитерпент, фенолт зэрэг голлох үйлчилгээтэй нэгдлүүд илэрсэн тул биотехнологийн аргаар гарган авсан тухайн зүйл ургамлыг цаашид эмийн болон бусад үйлдвэрлэлийн хэрэгцээнд ашиглах боломжтой юм.

Талархал

Энэхүү судалгааны ажил нь БСШУСЯам, ШУТСангийн санхүүжилтээр “Монгол орны зарим ховор эмийн ургамлын генофондыг хамгаалах биотехнологийн үндэслэл” сэдэвт суурь судалгаа (ШуСс 2017/2019)-ны төсөлт ажлын хүрээнд Ургамлын Биотехнологийн лабораторид хийгдсэн болно. Мөн туршилтын

3-р хүснэгт. Ялгаатай дээжүүдэд хийсэн фитохимийн шинжилгээний үр дүнг бусад судалгааны үр дүнтэй харьцуулсан байдал

Нэгдлийн нэр		Нэгдлийн ангилал	Imam et al., 2013 (спиртэн ханданд)	Raviraja et al., 2015 (эфирийн тосонд)	Raal et al., 2016 (эфирийн тосонд)	Raina et al., 2002 (эфирийн тосонд)	Sharma et al., 2020 (review)	Samaneh et al., 2017 (эфирийн тосонд)	Todorova et al., 1995 (эфирийн тосонд)	Оюунбилэг нар., 2016 (метанолон ханданд)	Бидний судалгаагаар (гексан ханданд)	Бидний судалгаагаар (эфирийн тосонд)
α asarone	2х	фенилпропаноид	+	+					маш бага			
	3х											
	4х											
β asarone	2х		11	5	3-19			0.2-3				
	3х											
	4х											
Methylisoeugenol			+	+	0.6-1	0.6	+	0.7-3	0.8		0.05-9.18	
Shyobunone			+	+	13.7		+	7.57	0.5		0.03-1	
Isoshyobunone			8.6	+	0.5-2.3		+		13.1			
Acorenone				+	0.8-27.5		+		14.4	+		+
α Selinene		5.0	+			+	3.78	0.7	<i>in vitro</i> -д	β selinene-0.04-6.64		
Aromadendrene				0.2-0.3						0.93-4.61		
Nerolidol				0.1-0.5						0.25-1.27	+	
α Pinene		моно терпен	+		0.1-0.3	маш бага	+		0.7		0.1-0.51	+
Geranyl acetate				+								+

ажлыг гүйцэтгэхэд гүн туслалцаа үзүүлсэн Хими, химийн технологийн хүрээлэнгийн Байгалийн нэгдлийн химийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан Н.Жавзмаад талархал илэрхийлье.

Эшлэл авсан бүтээл

- [1] Salmerón-Manzano E., Garrido-Cardenas J. A., Manzano-Agugliaro F. Worldwide research trends on medicinal plants. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17, 2020. p3376
- [2] Нямбаяр Д., Оюунцэцэг Б., Тунгалаг Р. Монголын ургамлын улаан данс ба хамгааллын төлөвлөгөөний эмхэтгэл. УБ, 2012. х78
- [3] Shu H., Zhang S., Lei Q. Y., Zhou J., Ji Y. Y., ...Long Ch., Ethnobotany of *Acorus* in China. The Journal of Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 87(2), 2018. p3585
- [4] Sharma V., Sharma R., Gautam D. S., Kuca K., Nepovimova E., Martins N. Role of Vacha (*Acorus calamus* Linn.) in neurological and metabolic disorders: Evidence from ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and clinical study. Journal of Clinical Medicine, (9)4, 2020. p1176
- [5] Imam H., Riaz Z., Azhar M., Sofi G., Hussain A. Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.): An incredible medicinal herb. International Journal of Green Pharmacy, 7(4), 2013. p288-296
- [6] Mukherjee P. K., Kumar V., Mal M., Houghton P. J. *Acorus calamus*: Scientific validation of Ayurvedic tradition from natural resources. Journal of Pharmaceutical Biology, 45(8), 2008. p651-666
- [7] Мэндсайхан З., Ариунаа З., Пүрэвжав М. Эмт ургамал, 2-р боть. УБ, 2016. х305-308
- [8] Raviraja G. Sh., Shruthi A. M. A review on pharmacology of *Acorus calamus* - an endangered medicinal plant. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 6(1), 2015. p605-621
- [9] Abubakar A. R and Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. Journal of Pharmacy and BioAllied Sciences, 12(1), 2020. p1-10
- [10] Syarif R. A., Rasyid R and Najib A. Dringo rhizome (*Acorus calamus* L.): A potential source high β -asarone. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(3), 2015. p258-261
- [11] Hartati S., Soemiati A., Eka I. A. Isolasi β -asaron dari Rimpang Dringo (*Acorus calamus* Linn.) serta Uji Aktivitas Antimikroba. Jurnal Bahan Alam Indonesia, 8(2), 2012. p85
- [12] Imam H., Riaz Z., Azhar M., Sofi G., Hussain A. Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.): An incredible medicinal herb. International Journal of Green Pharmacy, 7(4), 2013. p288-296
- [13] Turner D. Gas Chromatography - How a Gas Chromatography Machine Works, How to Read a Chromatograph and GCxGC. Retrieved from <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/gas-chromatography-how-a-gas-chromatography-machine-works-how-to-read-a-chromatograph-and-gcxc-335168>, 2021.03.17
- [14] Deepalakshmi P. D., Khongorzul O., Thirugnanasambantham P., Oyunbileg Yu., Altanzul Kh., Senthil K. Metabolite profiling of *In vitro* cultured and field grown rhizomes of *Acorus calamus* from Mongolia using GC-MS. Journal of Chromatographia, 79(19-20), 2016. p1359-1371
- [15] Tan K. H., Nishida R. Methyl eugenol: Its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. Journal of Insect Science, 12(56),

2011. p1-74
- [16] Одонтуяа Г. Эмийн ургамал- эмчилгээний идэвхт нэгдэл. Хими, химийн технологийн хүрээлэнгийн эрдэм шинжилгээний бүтээл №6, 2018. х21-28
- [17] Оюунбилэг Ю ба бусад. “Хуруу шилэн доторх ургамал-2”, УБ, 2017. х83-120
- [18] Todorova M. N., Ognyanov I. V., Shatar S. Chemical composition of essential oil from Mongolian *Acorus Calamus* L. rhizomes. Journal of Essential Oil Resources, 7(2), 1995. p191-193
- [19] Ding Ye., Huffaker A., Köllner T. G., Weckwerth Ph., Robert A. M., ...Schmelz E. A. Seline volatiles are essential precursors for maize defense promoting fungal pathogen resistance. Journal of Plant Physiology, 175(3), 2017. p1455-1468
- [20] Chandra D., Prasad K., Kohli G., Bisht G., Punetha V. D., ...Pandey H. K. Essential oil composition of *Acorus calamus* from district-Pithoragarh, Uttarakhad, India. World Journal of Pharmaceutical Research, 4(9), 2015. p1158-1166
- [21] Nejad S. M., Özgüneş H., Başaran N. Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(2), 2017. p201-206
- [22] Soman M., Chandran P., Nair R., Vinod V. M., Kesavamongalam Sh. P., Nair Govindapillai A. N. Nutritional and anti-nutritional status of *Acorus calamus* L. rhizome. Journal of Food Science and Technology, 15(1), 2014. p51-59
- [23] Raal A., Orav A., Gretchushnikova T. β -Asarone content and essential oil composition of *Acorus calamus* L. rhizomes from Estonia. Journal of Essential Oil Research, 28(4), 2016. p299-304
- [24] Raviraja G. Sh., Shruthi A. M. A review on pharmacology of *Acorus calamus* - an endangered medicinal plant. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 6(1), 2015. p605-621
- [25] Gyawali R and Kim K. S. Volatile organic compounds of medicinal values from Nepalese *Acorus calamus* L. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, 5(2), 2009. p51- 65
- [26] Chan W. K., Tan L. T., Chan K. G., Lee L. H., Goh B. H. Nerolidol: A sesquiterpene alcohol with multi-faceted pharmacological and biological activities. Journal of Molecules, 21(5), 2016. p529